高速イオン交換クロマトグラフィ用充てんカラム

TSK-GEL SUGAR AXタイプ

取扱説明書

（ステンレスカラム）

TOSOH
東ソー株式会社

ご使用の前に

¡本製品を使用する前に，必ずこの取扱説明書をよく読んで理解してください．
¡この取扱説明書は，手近な所に大切に保管し，必要なときにいつでも取り出せるようにしてください．
¡製品本来の使用方法および取扱説明書で指定した使用方法を守ってください．
¡本書の安全に関する指示に対しては，指示内容を理解の上，必ず従ってください．
以上の指示を必ず厳守してください．
指示に従わないと，怪我や事故の恐れがあります．

【取扱説明書について】

¡取扱説明書の内容は，製品の性能・機能の向上により将来予告なしに変更することがあります．
¡取扱説明書の全部または一部を無断で転載，複製することは禁止しています．
¡取扱説明書を紛失したときは，弊社営業担当者までお問い合わせください．
¡取扱説明書の内容に関しては万全を期していますが，万一不審な点や誤り，記載漏れに気づいたときは，お手数ですが巻末の連絡先までご連絡ください．

安全上のご注意

- ご使用の前に，この「安全上のご注意」をよくお読みのうえ，正しくお使いください．
- この項目は，いずれも安全に関する内容ですので，必ず守ってください．
- 「警告」「注意」の意味は次のようになっています．

⚠ 警告	取扱いを誤った場合，使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの．
⚠ 注意	取扱いを誤った場合，使用者が傷害を負う可能性が想定されるものまたは物的損害の発生が想定されるもの．

ご使用時

⚠ 警告

●火気厳禁

- 引火性のある溶媒を使用する場合，火気の使用は厳禁です．火災，爆発の原因になります．

⚠ 注意

●換気に注意を

- 引火性，毒性のある溶媒を使用する場合，十分換気をしないと火災，爆発，中毒の原因になります．

●液漏れに注意を

- 溶媒等の液漏れは，感電，中毒，薬傷，火災，腐食などの原因になります．液漏れの場合は，適切な保護具を付けた上で，液を取り除いてください．

⚠ 注意

●保護具の着用を

- 有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は，保護メガネ，手袋などの保護具をご使用ください．薬傷を負う恐れがあります．

●取扱いに注意を

- 取扱いが不適切であると，カラムの性能を損なうことがあります．取扱いには十分注意してください．

●適切な使用方法を

- 本カラムは分離，精製等に用いるもので，それ以外の目的には使用しないでください．

●圧力に注意を

- 急激な圧力上昇は，カラムの性能を損なう原因になります．又，カラム材質により破裂，飛散等の可能性があります．規定以上の圧力にならぬように注意してください．適切な保護具を付けた上で，十分注意して作業をおこなってください．

●分離精製物の取扱いに注意を

- 得られた分離精製物または精製溶液を製品および中間体として使用する場合は，十分にその安全性の確認をおこなってご使用ください．

●処分には適切な処理を

- 廃棄する場合は，産業廃棄物として適切な処理をおこなってください．

【その他の注意】

- 製品本体に警告表示ラベルが貼付されている製品は，表示内容を確認し，安全にご利用ください．
- 警告表示ラベルが，汚損または剥離し表示内容がわからなくなった場合には，当社窓口担当者までお申し付けください．貼り替え用ラベルをお送りいたします．
- 本書は大切に保存してください．また，ご利用者が代わる場合には次のご利用者にお渡しください．

取扱い上のご注意（充てん剤に関する注意）

応急措置	眼に入った場合	¡ 流水で15分以上洗眼する．その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるようにおこなう． ¡ 医師の手当てを受ける．
	皮膚に付着した場合	¡ 水等で洗い流す．
	吸入した場合	¡ 空気の新鮮な場所に移動しうがいをおこなう．
	飲み込んだ場合	¡ 口腔を水洗し，医師の手当てを受ける．
取扱いおよび保管上の注意	火気等の注意	¡ 火気の使用を禁じ火花の発生を防止するための防爆工具の使用および接地等をおこなう．
	換気	¡ 換気設備などで換気する．
	取扱い時の保護具	¡ 取扱いの際は保護メガネおよび防じんマスクを着用する．
廃棄上の注意	処分方法	¡ 廃棄する場合は焼却設備等で少量ずつ焼却処分をおこなう．
	一般的な留意事項等	¡ 処分作業は可燃物の取扱いおよび保管上の注意事項に留意しておこなう．
	処分上の注意	¡ 焼却処分する場合，TSKgel Boronate-5PW，ABA-5PWは窒素酸化物ガス，TSKgel Heparin-5PW，Blue-5PWは硫黄酸化物ガスおよび窒素酸化物ガスを発生するので排ガス対策をおこなう．

□充てん剤；可燃性充てん剤（親水性ビニル共重合物）
□出荷溶媒；蒸留水（0 ℃付近で凍結の可能性がありますので保存温度に注意してください）

目　次

1．はじめに…… 1
2．ご使用の前に…… 1
3．カラム各部の名称…… 2
4．装置へのセットと注意…… 2
5．カラムの保管法…… 4
6．溶媒の選択…… 5
7．使用流速…… 6
8．使用温度…… 7
9．試料溶液の調製…… 7
10．理論段数，非対称係数の測定…… 8
11．トラブル発生時の処理法…… 9
12．品質規格および保証……11
13．おわりに……12

2004年 9 月改訂

1．はじめに

TSKgel Sugar AXは，単糖類の分離分析用に開発されたイオン交換クロマトグラフィ用充てんカラムです．

糖はホウ酸と結合し，アニオン性の錯イオンを生成する性質が知られていますが，この性質を利用して，糖類をアニオン交換クロマトグラフィによって分離することができます．

このTSKgel Sugar AXは粒子径分布が狭く，高分離能でかつ再現性のよいことが大きな特徴です．

この高性能カラムの性能を十分に発揮させて，効果的にご使用いただくために，ご使用の前に，この取扱説明書をよくお読みのうえ，正しくご使用くださいますようお願いいたします．

2．ご使用の前に

まず，梱包状態およびカラムの外観に異常はないか確かめてください．

図1　梱 包 外 観 図

つぎに，カラムと別に次の品物が入っていますので，ご確認ください．

™ 取扱説明書…… 1 通

™ 検査票（INSPECTION DATA）…… 1 通

3．カラム各部の名称

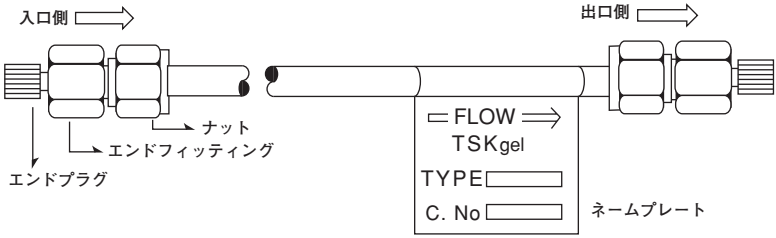

図２　カラムの見取図

4．装置へのセットと注意

4–1　カラム部品の接続方式

すべてスエジロック方式で，インチ規格です．

4–2　カラムの通液方向

図２に示した矢印の方向，すなわちネームプレートのFLOWの矢印のとおりに使用してください．逆方向に長時間液を流すと，カラムの性能が低下します．

4–3　気泡の混入防止

カラムを装置にセットする際，また取りはずす際に，カラム内に空気を入れないよう十分注意を払い，必ず装置の全配管系の気泡を除いた後，カラムを装置にセットしてください．カラム内に気泡を入れますとチャンネリング等により性能が低下します．

4–4　カラムの接続

4–4–1　エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくる場合

カラムは装置の全配管系の気泡を除いたことを確認して接続しますが，カラムの入口側のエンドプラグをはずしたとき，エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくれば，先に述べたように気泡をカラムに入れないよう注意しながら装置を接続してください．

4–4–2　エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合

カラム入口側のエンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合には，カラム出口側エンドフィッティングと装置とを接続し送液ポンプにより溶媒を送り，逆流しによって入口側エンドフィッティング付近の気泡を溶媒で押し出してください．この際，急激な加圧，あるいは送液は，カラムの性能を低下させますので，溶媒は0.2mL／min以下（25℃のとき）で送り込んでください．

4–4–3　気泡が出ないことを確認したら

このようにしてカラム入口側エンドフィッティングより気泡が出ないこと，および溶媒がにじみ出ることを確かめたら，カラムを正常な通液方向にして，入口側エンドフィッティングと装置とを接続してください．

その後，カラムオーブン槽の温度が設定温度まで上昇した後，溶媒送液速度を測定流速に合わせてください．（この際最大使用圧力を越えないように注意してください．）（7．使用流速，表１参照）

（カラムと装置の接続は，１／16インチリードパイプを用いますが，できるだけデッドボリュームを少なくするためリードパイプの長さを短くしてさらに，内径0.4mm ϕ 以下のものを用いてください．またリードパイプは，エンドフィッティングにいっぱい差し込んでおいた状態でフェラルを固定してください．リードパイプとエンドフィッティングとの間にすき間があると，溶媒の流れが乱れ，分離能を低下させます．）

4–5　測定開始前

カラムのセット終了後，測定を開始しますが，その際，先にも述べましたように急激な加圧，送液はカラムの性能を低下させますので避けてください．とくに急激な圧力の立上がりを示す送液ポンプは使用しないでください．

4–6　脈流対策

このカラムは，脈流に対して非常に影響を受けやすいので，十分に注意してください．送液ポンプは，脈動のないものを選んでください．もし脈動のあるポンプをご使用の場合は，パルスダンパ（アキュムレータ）をポンプ吐出側に接続して，脈動を消去してください．

4–7　測定終了後

4–7–1　装置の停止

測定終了時には，まず送液流速を0.2mL／min以下に設定し，カラムオーブン槽

の温度を下げます．オーブンの温度が室温近くまで下がったとき送液を停止してください．加温のままポンプを止めますと，溶媒の収縮によりカラム内に気泡を引き込むことがあります．またこのカラムは比較的高い塩濃度のホウ酸緩衝液を使用することが多いためポンプのプランジャに塩が徐々に析出してきます．

ポンプの停止前にプランジャを純水で洗浄することによりプランジャシールの寿命を延ばすことができます．

4-7-2　測定が終了し，翌日も同一カラム系で測定される場合

全配管系の漏れがなければ，装置内でセットしたままで，翌日使用されてもかまいません．

ただし，検出器のドレイン配管内で，塩が析出することを防ぐために，配管出口は水溶液中に入れておいてください．次の測定が一週間以内であれば装置に装着したままでも問題ありません．

4-7-3　長期保存の場合（一週間以上）

カラムを装置からはずし，両末端をカラム納入時と同じようにエンドプラグを使って完全に封をしてください．また，装置内での塩の析出を防ぐためにこのカラムの使用後は，ポンプ，配管，および検出器等の接液部に純水を送液して洗浄してください．

5．カラムの保管法

5-1　保管方法

4-7項にもとづいて保管してください．

5-2　保管時の温度

カラムは室温にて，できるだけ温度差の小さい場所（恒温室）に保管してください．

カラムは，0℃以下の場所に放置した場合には，凍結の可能性があり，カラムの劣化の原因となりますのでこれは絶対に避けてください．

5-3　直射日光

避けてください．

5-4　腐食性ガス

発生しない安全な場所に保管してください.

6．溶媒の選択

6-1　使用溶媒

カラムは0.5Mホウ酸緩衝液（pH8.7）で充てんされ出荷されています．使用できる溶媒は対イオンとしてホウ酸イオンを含むものに限定されます．対イオンの大部分が別のイオンに交換された場合樹脂の膨潤度が変化し，カラム性能を著しく低下することがあります.

6-2　塩 濃 度

使用できる濃度は，150mMから1.0Mのホウ酸緩衝液です．この範囲の塩濃度では同一流速下でも濃度が低いほどカラム圧力が上昇します．特に純水系では大きくカラム圧力が上昇し，実用的な流速（0.2mL／min以上）での使用は困難です.

6-3　pH範囲

TSKgel Sugar AXは，室温下で化学的に十分安定ですが，以下に述べる理由でpH7.0～10.0の範囲でご使用ください．すなわちpHが高いほど同一流速下でカラム圧力が上昇しpH10以上では実用的な流速範囲で使用できません.

またpH7.0以下ではホウ酸緩衝液の緩衝能も小さいためにpHが不安定になります.

6-4　水溶性有機溶媒の添加

疎水性物質の溶出には溶媒への有機溶媒の添加がしばしばおこなわれます．このカラムの許容量は20vol%以下です．添加量が限定されますから，試料中の疎水性物質は前処理でできるだけ減少させておくことがトラブルの防止となります．有機溶媒を添加する場合はその種類と比率等によって異なりますが，一般にホウ酸塩は沈澱しやすくなりますので，ご注意ください．（なお許容量以上の添加を必要とする場合は，充てん剤TSKgel Sugar AXをお買い上げのうえ，希望の溶媒組成でのカラム作成をお奨めします.）

6–5　その他の注意事項

6–5–1　検出器との関係

溶媒中の可溶性不純物は，ゴーストピークの原因になることがあります．溶媒および試薬はできるだけ純度の高いものをご使用ください．有機溶媒を添加した場合，反応型検出法では反応試薬の性質を考慮する必要があります．またRI検出器では溶媒の脱気に注意してください．（6–5–4参照）

6–5–2　溶媒中の不溶性物質

不溶性物質の混入はカラムの目詰まりを起こし，カラム性能の劣化の原因になります．溶媒は蒸留水，または0.2 μmのフィルタを通した純水を使って調製してください．有機溶媒はガラスビン入りの特級試薬またはクロマトグラフィ用試薬をご使用ください．

6–5–3　溶媒の沸点

有機溶媒を添加した場合などは溶媒の沸点にご注意ください．

6–5–4　溶媒の脱気操作

一般には，減圧下超音波洗浄器中での脱気が効果的ですが，オフラインでおこなう場合不純物や不溶物の混入にご注意ください．

7．使用流速

7–1　流速設定について

使用流速は，分離能，測定時間，カラムの耐久性などを考慮して選択されます．流速が高いほど測定時間は短くなりますが，分離能は逆に流速が低いほど向上します．また，カラム耐久性の面からは流速が低い方が好ましく，トップオフ現象（カラム液入口側にすき間の空く現象）を起こしにくい利点があります．

7–2　適正流速

表１に示すような適正流速で使用してください．最大圧力以上でのご使用は避けてください．

7–3　溶媒の粘度

一般に溶媒の粘度は温度の低下に伴って高くなります．粘度の高い溶媒を用いる

ときは圧力損失が大きくなり，カラムの劣化原因となります．最大圧力以下になるように流速を設定し，ご使用ください．

表1　使　用　流　速

品　番	品　　名	カラムサイズ（mmID×cm）	適正流速（カラム温度）mL/min（℃）	最大圧力（MPa）
8639	TSKgel Sugar AXI	4.6×15	0.2～0.4（60～80）	3
8640	TSKgel Sugar AXG	4.6×15	0.2～0.5（60～80）	2

これらの流速は出荷時充てん溶媒での使用流速です．

8．使用温度

8-1　使用温度範囲

このカラムは25℃以上80℃以下で使用できます．この範囲ではカラム温度が高いほど糖の分離能は向上しますが，一部の糖（フルクトースなど）は70℃以上ではカラム内で変性を受けるものがあります．したがって一般には55℃以上70℃以下でご使用ください．

9．試料溶液の調製

9-1　試料調製

a　固体試料はできるだけ溶離液または純水を用いて調製してください．

s　液体試料では塩や酸性または塩基性物質が溶存する場合にはできるだけそれらを除去してください．特に試料注入容量が多いときはクロマトグラムの再現性に影響することがありますし，アニオン性ポリマが充てん剤に結合した場合は除去が困難です．

ディスポカラムTOYOPAK IC－SP（東ソー製）や市販のイオン交換樹脂により試料の前処理することをお奨めします．なお溶存する疎水性物質の大部分は上記方法で同時に吸着除去されます．試料溶液中に有機溶媒が多量に含まれる場合は純水または溶離液で希釈して注入してください．ただし有機溶媒の添加によってホウ酸塩は沈澱しやすくなりますので，溶離液中の塩が沈澱しない条件範囲内で注入してください．

10．理論段数，非対称係数の測定

カラムの理論段数，非対称係数および測定条件は，検査票（INSPECTION DATA）記載の通りです．

10−1　理論段数計算法

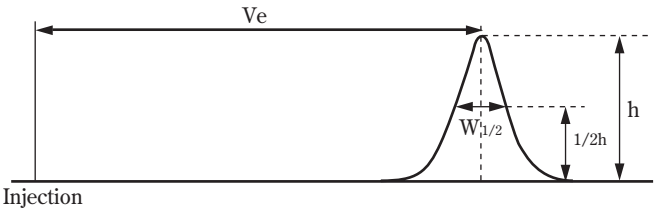

図 3　TSK−GEL　理論段数計算法

カラムの理論段数は，半値幅法により計算をおこなっており，カラム当りの段数で表示してあります．

$N = 5.54\ (Ve/W_{1/2})^2$

Ve　：　溶出時間

$W_{1/2}$　：　ピーク半値幅

h　：　ピーク高さ

N　：　カラム当りの理論段数

10−2　非対称係数計算法

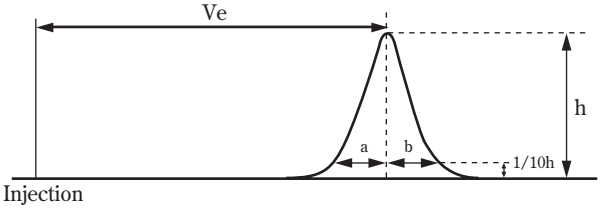

図 4　TSK−GEL　非対称係数計算法

カラムの非対称係数は，1／10h法により計算をおこなっています．

As＝b/a

As　：　非対称係数

なお，カラム検定は，（できるだけデッドボリュームを小さくした）当社HLC装置で測定しております．

10-3　他社装置に接続する場合

デッドボリュームの大きい装置を使用した場合，あるいは注入量を多くした場合は，規格値よりも低い理論段数を示すことがありますので，注意してください．

11．トラブル発生時の処置法

使用中もし下記のようなトラブルが発生した場合，以下の手順にしたがってチェックをし，適切な処置をおこなってください．処置が適切であれば，元通りに近い性能に回復することもありますが，カラムの寿命，吸着物質，気泡の混入，乾燥，凍結等が原因の場合には，元通りの性能は得られませんので，カラムの取扱いには十分な注意を払ってください．

11-1　カラムエンドフィッティングトラブル

試料を注入後に急激に流量の低下をみた場合，同一流量でカラム購入時より大きく圧損が増大した場合，あるいはエンドフィッティングのスウェジロックが破損した場合11-1-1〜11-1-3項の次の処置や確認をおこなってください．

11-1-1　つまり物の押し出しまたはエンドフィッティングの交換

カラムを装置より取りはずし，出口側エンドフィッティングをポンプ側配管に接続し通常の流速で送液して，入口側エンドフィッティングにつまったものをカラム外に押し出してください．出口側エンドフィッティングがつまった場合には逆の操作をおこなってください．これでもつまったものが取れない場合，あるいはエンドフィッティングが破損した場合は，11-1-2項の手順にしたがってエンドフィッティングの交換をおこなってください．

11-1-2　エンドフィッティングの交換

新しいエンドフィッティングを用意し，つまったエンドフィッティングをカラムより取りはずします．この際，ゲルが外部に漏れないよう細心の注意を払ってください．取りはずしたエンドフィッティングに残っているゲルを，新しいエンドフィ

ッティングに移しカラムに取りつけます.

11-1-3　エンドフィッティングの交換後

これの交換が終わりましたら，4-4-2項を参考にして，新しいエンドフィッティング側の気泡を取り除いた後，理論段数を測定し，段数の低下が起こってないか確認してください.

11-2　分離能が急激に低下した場合

カラム系の理論段数を測定してください．段数が正常であれば試料に原因があると思われますので，新しく試料を作り直してください．もし理論段数も異常であれば，カラムの性能低下と考えられます．カラムの性能低下の場合は，以下の処置をおこなってみてください.

カラム系の分離能が急激に低下する原因としては，11-2-1～11-2-3項のようなものがあります.

11-2-1　エンドフィッティングにゴミ等がつまり，流路に乱れを生じる場合

11-1項を参考にして，エンドフィッティングの洗浄または交換後，理論段数を測定してください.

11-2-2　カラム入口側のすき間

急激な加圧，最高圧力以上の圧力がかかった場合，4-6項の脈流対策に関して考慮をしなかった場合，あるいは交換可能以外の溶媒を流した場合には，カラムの液入口側にすき間が生ずる場合があります.

この場合，理論段数の低下が極端に大きく（各グレードで，購入時の段数の30%以下），かつ単一試料のピークの形が大きくテーリングしたり，ピークが２つに割れたりしますので，入口側エンドフィッティングを取りはずしてみてください．すき間が空いていましたら，そのカラムは再生不能です．ただしTSKgel Sugar AXについては，カラムと別にゲル（充てん剤）を発売しておりますので，ゲルをすき間につめることにより再生可能の場合があります。この場合，同一グレードのゲルをすき間につめてエンドフィッティングを取りつけてください.

4-4-2項を参考にして気泡を取り除き，再び理論段数を測定してください．理論段数の回復が十分でない場合，再びエンドフィッティングを取りはずし，すき間があれば，うめて理論段数を測定してください．それでも回復しない場合，およびエンドフィッティングを取りはずしたときに，すき間が生じてない場合，そのカラムは再生不能です.

11-2-3　吸着物質が蓄積した場合

この場合は11-3項を参考にしてください．

11-3　使用中に試料が吸着して溶出しないか，または溶出がいちじるしく遅れる場合

長時間繰り返して測定しているうちに，溶出挙動がいちじるしく変化する場合がありますが，このような現象は，試料中の微量吸着成分が充てん剤表面に蓄積し表面状態が変化したために起こるものと考えられます．このような場合，性質の異なる溶媒で洗浄することにより分離能が回復することがあります．

下記に吸着の代表例を示します．

吸着現象と洗浄法の例

a　イオン性吸着（アニオン性物質の除去）

0.8Mホウ酸緩衝液（pH8.5）で流速0.2mL／minで１晩（16hr）洗浄する．

s　疎水性吸着（疎水性物質の除去）

20vol%アセトニトリル含有0.5Mホウ酸緩衝液（pH8.5）で流速0.2mL／minで１晩（16hr）洗浄する．

12. 品質規格および保証

12-1　検査票（INSPECTION DATA）

検定条件，検定結果は，検査票記載のとおりです．このうち，理論段数はカラム当りの理論段数で，圧力は検定流速での圧力を表示してあります．

12-2　品質規格

TSK－GELタイプは，以下の規格で出荷されております．

表2　品 質 規 格

品　番	品　　名	カラムサイズ (mmID×cm)	理 論 段 数 (TP/column)	非対称係数 (As)
08639	TSKgel Sugar AXI	4.6×15	3,700	0.7～1.6
08640	TSKgel Sugar AXG	4.6×15	2,700	0.7～1.6

測定条件は検査票のとおりです。

12-3　保証

① 現品到着後，検査票並びにこの取扱説明書に記載の条件で，カラムの理論段数および非対称係数をチェックしてください．当社の責任で規格値を外れている場合には良品と交換いたします．

② 輸送中の事故などで，カラムに破損が認められる場合には良品と交換いたします．

③ 上記，品質不良につきましては現品到着後，2 週間以内にご連絡ください．2 週間を過ぎた場合は良品としてお受取りいただいたものとみなします．

④ カラムの寿命については，保証の対象外といたします．

⑤ 商品の仕様は，改良のため予告なく変更することがあります．

13. おわりに

本取扱説明書の内容に関して，あるいは記載外のことについてご質問等がありましたら，巻末の連絡先にご連絡ください．

以下の名称は東ソー株式会社の登録商標です.
HLC, TSK-GEL, TSKgel, TSKgel SuperMultipore,
BioAssist, Enantio, PStQuick,
エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen,
TOYOPEARL GigaCap, トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap,
トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK

東ソー株式会社　バイオサイエンス事業部

東京本社　営業部　☎(03)5427-5180　〒105-8623　東京都港区芝3-8-2
大阪支店　バイオサイエンスG　☎(06)6209-1948　〒541-0043　大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店　バイオサイエンスG　☎(052)211-5730　〒460-0003　名古屋市中区錦1-17-13
カスタマーサポートセンター　☎(0120)17-1200　〒252-1123　神奈川県綾瀬市早川2743-1

Printed in Japan